UNIVERSITÉ PARIS VI
FACULTÉ DE MÉDECINE PITIÉ-SALPÊTRIÈRE

Année 1973 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Jean-Claude LEROY
Né le 24 Août 1946 à Paris

Présentée et soutenue publiquement le

CONFRONTATION IMMUNO-CLINIQUE PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE DANS LES BILHARZIOSES A SCHISTOSOMA MANSONI ET SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM

A propos de 361 cas

Président de Thèse : Monsieur M. GENTILINI (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI°
1973

UNIVERSITÉ PARIS VI

FACULTÉ DE MÉDECINE PITIÉ-SALPÊTRIÈRE

Année 1973 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Jean-Claude LEROY

Né le 24 Août 1946 à Paris

Présentée et soutenue publiquement le

CONFRONTATION IMMUNO-CLINIQUE PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE DANS LES BILHARZIOSES A SCHISTOSOMA MANSONI ET SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM

A propos de 361 cas

Président de Thèse : Monsieur M. GENTILINI (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne

PARIS-VI^e^

1973

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A mes Parents,

Avec toute mon affection

A ma Soeur, Béatrice

A mes Amis

A Monsieur le Professeur GENTILINI,

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris,

Nous gardions depuis notre troisième année de médecine, un souvenir très vivant de votre enseignement,

C'est un particulier honneur de vous voir aujourd 'hui présider cette Thèse,

Qu'il nous soit permis de vous exprimer, ici, notre très respectueux attachement et notre entier dévouement.

A Monsieur le Docteur G. NIEL,

Notre travail quotidien nous a fourni
la matière de cette thèse,

Nous vous remercions de l'aide que vous
nous avez apportée et de l'accueil
très chaleureux que vous nous avez
toujours réservé.

A Messieurs les Docteurs Ph. AUTISSIER
et Cl. BOULAKIA

Médecin et Chirurgien du Centre Hospitalier
d'Auxerre,

Vous avez su rendre passionnant un stage interné qui restera pour nous inoubliable,

Nous vous exprimons, ici, notre très respectueux et fidèle attachement.

CONFRONTATION IMMUNO-CLINIQUE PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE DANS LES BILHARZIOSES A SCHISTOSOMA MANSONI ET SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM

-:-

A propos de 361 cas

INTRODUCTION

-:-

Née depuis plus d'une dizaine d'années, l'immunologie des affections parasitaires a pris une extension considérable. Parmi les diverses techniques sérologiques proposées, l'immunofluorescence indirecte s'est avérée être des plus maniables par sa rapidité d'exécution et son faible prix de revient.

Utilisé de façon courante dans le diagnostic des bilharzioses au laboratoire d'immunologie parasitaire de l'hôpital de la Pitié, nous avons cherché en nous plaçant du strict point de vue du clinicien, à savoir dans quelle mesure cet examen, réflétait réellement la gravité et l'évolutivité des lésions bilharziennes.

Nous avons repris pour ce travail 361 dossiers de sujets atteints de bilharziose chronique évolutive et confronté les résultats de l'immunofluorescence indirecte aux données cliniques ou paracliniques disponibles.

° ° °

P L A N

-:-

Nous envisagerons successivement :

- Un bref rappel historique des réactions d'immunofluorescence indirecte, antérieurement proposées dans le diagnostic des bilharzioses.

- La préparation de l'antigène parasitaire, nécessaire pour la réalisation des coupes à la congélation ici utilisées.

- Les modalités pratiques de la réaction et son étude critique.

Nous terminerons enfin sur une confrontation immuno-clinique de 361 sujets porteurs de bilharzioses à Schistosoma mansoni ou Schistosoma haematobium.

° ° °

HISTORIQUE

-:-

Initialement mise au point par SADUN, WILLIAMS et ANDERSON (5) en 1960, la technique d'immunofluorescence indirecte appliquée au diagnostic des bilharzioses, n'a cessé d'être améliorée.

Après l'utilisation princeps de supports antigéniques peu maniables (oeufs ou cercaires notamment) CAMARGO et coll. dès 1965, préconisaient l'emploi de Schistosomes adultes broyés (12).

A Lyon, GARIN, COUDERT, AMBROISE THOMAS et POTHIER, (2,19,39) mettaient au point une technique de coupes à congélation d'organes parasités par Schistosoma mansoni.

° ° °

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE

SUR COUPES A LA CONGELATION

-:-

PREPARATION DE L'ANTIGENE PARASITAIRE

- Les difficultés rencontrées dans l'infestation expérimentale des bullins et la survie d'une souche de Schistosoma haematobium en laboratoire, ont amené les différents auteurs à n'utiliser que des planorbes permettant l'obtention d'antigène figuré à Schistosoma mansoni.

- L'entretien de ce cycle expérimental ne pose pas ici de problème particulier et subit de légères modifications suivant les laboratoires concernés.

- La chaîne épidémiologique ainsi reconstituée comporte :

- un mollusque intermédiaire : le planorbe,
- un hôte définitif : le hamster,
- un milieu ambiant favorable à l'éclosion des oeufs et à la vitalité des formes infestantes.

° ° °

ENTRETIEN DES PLANORBES

-:-

La souche utilisée au laboratoire de la Pitié, est une souche d'Australorbis glabratus.

Les planorbes sont entretenus dans des cuves d'une capacité de 6 litres, remplies d'eau de source. Maintenues à la température ambiante de 22°, exposées à la lumière naturelle, ces cuves sont régulièrement oxygénées et purifiées comme tout aquarium banal.

Quelques précautions, cependant, sont nécessaires à la réalisation pratique de cet élevage :

Le nombre de 30 mollusques par récipient s'avère optimal à leur développement ; il est souhaitable de vérifier quotidiennement leur vitalité et de supprimer, le cas échéant, les mollusques morts.

Les planorbes sont régulièrement nourris avec des laitues fraîches préalablement lavées, à l'exclusion de toute autre alimentation.

Il est préférable de déposer sur un fond de gravier, une pierre calcaire permettant un apport calcique pour la formation des coquilles.

Un support en plastique enfin, placé dans l'aquarium paraît favoriser et accélérer la ponte des oeufs nécessaires à la reproduction des mollusques.

INFESTATION DES PLANORBES

-:-

L'infestation des planorbes est réalisée sur la base de 5 miracidiums par mollusque.

On dépose 5 planorbes et les miracidiums dans de petits borrels, les soumettant pendant trois heures à un éclairage intense.

Puis, les planorbes infestés sont placés dans un erlenmeyer rempli d'un liquide identique à celui des cuves et laissés à l'étuve à 23° pendant 21 jours, dans l'obscurité. Ce délai écoulé, les mollusques sont sortis de l'étuve, replacés dans les cuves d'origine pour une semaine d'adaptation.

° ° °

INFESTATION DE L'HOTE DEFINITIF

-:-

Les cercaires infestantes libérées dans les cuves, sont alors recueillies ; l'utilisation d'une pipette Duclaux permet d'évaleur leur nombre pour un volume de liquide connu. On peut ainsi déterminer la quantité exacte de formes infestantes délivrées à l'animal.

On utilise ici des hamsters âgés, résistant mieux à une infestation massive que leurs homologues plus jeunes.

850 cercaires environ sont ainsi délivrées au hamster "hôte définitif" ; cette contamination s'effectue par voie transcutanée, après immersion de l'animal une heure durant en présence des cercaires. Cette immersion étant précédée d'un premier bain en eau chaude pour ramollir la peau.

° ° °

RECUEIL DES OEUFS DE SCHISTOSOMES

-:-

Quarante cinq jours après l'infestation, les hamsters sont sacrifiés.

On isole, entre deux ligatures, le tube digestif qui est abondamment lavé et nettoyé de ses fécès.

Par simple raclage de la sous-muqueuse, on obtient les oeufs nécessaires à la réinfestation des planorbes. Les oeufs sont placés dans un récipient soumis à l'obscurité complète, contenant de l'eau de source chauffée à 30° ; une tubulure latérale de petit calibre émergeant de la chambre noire ainsi constituée, est soumise à un éclairage intense.

Libérés par l'éclosion des oeufs, les miracidiums attirés par phototropisme dans cette tubulure latérale, sont recueillis à son extrémité à l'aide d'une pipette.

Ainsi se trouve achevé le cycle expérimental, superposable dans son enchaînement à la contamination humaine.

° ° °

RECUEIL DES SCHISTOSOMES ADULTES

-:-

Les foies des hamsters abondamment infestés, présentent des piquetés blanc-jaunâtre, typiques des granulomes bilharziens.

La récolte des schistosomes adultes se fait sur des hamsters préalablement héparinés, par une perfusion à contre courant de la veine cave inférieure avec du sérum physiologique.

Les parasites adultes ainsi récupérés (250 en moyenne par animal), sont rapidement séchés, prêts pour la réalisation de coupes à la congélation, dans les quelques heures qui suivent.

Cette méthode fournit une quantité importante d'antigène figuré permettant de très nombreuses réactions d'immunofluorescence indirecte.

° ° °

PRINCIPE ET MODALITES TECHNIQUES DE LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE SUR COUPES A LA CONGELATION

-:-

PRINCIPE

-:-

La réaction d'immunofluorescence indirecte se développe en deux temps :

- Fixation des anticorps sériques circulants sur l'antigène figuré.

- Révélation des anticorps fixés (gammaglobulines) par un anti serum (antigammaglobulines humaines ou de lapins), rendu fluorescent par fixation d'isothiocyanate de fluoresceine.

Témoin du double processus immunologique, une réaction positive traduit l'enchaînement "antigène - anticorps circulants - antiglobuline fluorescente" et se manifeste par la fluorescence jaune-verte localisée sur l'antigène. En l'absence d'anticorps aucune fluorescence n'est théoriquement visible.

La dilution des sérums permet une appréciation quantitative des anticorps.

. Contre-coloration :

Dès les premiers essais de SADUN, WILLIAMS et ANDERSON, on notait des fluorescences parasites sur l'antigène en présence du seul conjugué.

Les difficultés qu'elles apportaient à l'interprétation des positivités, conduisaient les auteurs à introduire un contre-colorant. A la rhodamine conjuguée à de l'albumine

bovine, AMBROISE THOMAS substitua le bleu Evans. Ainsi se trouvent éliminés pour une large part, les marquages d'origine non immunologique, et certaines réactions croisées.

. Préparation des coupes :

Les Schistosomes sont utilisés après lavage soigneux, dans les deux heures qui suivent la perfusion. Trois ou quatre d'entre eux, disposés parallèlement, sont enroulés dans une paroi musculaire, et introduits après congélation dans une cavité ventriculaire de coeur de hamster ; l'ensemble est conservé à -20°. Des coupes à la congélation de 4 microns d'épaisseur, sont pratiquées perpendiculairement au grand axe du coeur et disposées sur les quatre surfaces circulaires gravées de lames microscopiques, rendues hydrofuges par siliconage ou fixation d'une couche de téflon. Les lames sont conservées à - 20° avant utilisation.

. Intérêt de la méthode :

Elle permet la découverte facile des sections de schistosomes en nombre optimal, et la bonne adhérence du matériel antigénique. Celui-ci est quotidiennement utilisable pendant de longues périodes, sous une forme de manipulation aisée.

° ° °

TECHNIQUE

-:-

Les manipulations comportent successivement :

- La fixation des lames 10 minutes en bain d'acétone placées à -20°, puis séchage 30 minutes à l'air.

- Dilution de raison 2 des serums en tampon physiologique pH 7,2, à partir de un centième.

- Dépôt des diverses dilutions à raison de 4 par lame.

- Incubation 30 minutes à 37° en atmosphère humide (fixation des anticorps sériques).

- Lavage 5/10 minutes dans le même tampon, puis application du conjugué fluorescent dilué à 1/100 en solution tampon comportant : 1% de tween 80 et 1/10.000 ème de bleu Evans.

- Incubation 30 minutes à 37°, puis lavage comme précédemment.

- Les coupes sont alors recouvertes de lamelles directement en présence de tampon .

- La lecture est effectuée dans des délais rapides à l'aide d'un microscope à fluorescence, comportant une lampe HBO 200, un filtre BG 12 (3mm) d'excitation, un condenseur à fond noir.

° ° °

CRITIQUE DE LA METHODE

-:-

Cette méthode a l'avantage de fournir un matériel antigénique abondant, relativement économique. Son exécution rapide, comparée à celle des méthodes utilisant des antigènes solubles (double diffusion, immunoélectrophorèse) permet l'examen en série de nombreux sérums dans un laps de temps n'excédant pas trois heures.

Spécificité

Tenue pour excellente par certains auteurs, elle apparaît parfois critiquable du fait de l'existence de fluorescences inexpliquées à de faibles dilutions. Nous reproduisons ici les chiffres obtenus sur une série de cent sérums, appartenant à des sujets n'ayant jamais séjourné en zône endémique. Cette étude, antérieurement publiée par ses promoteurs (37), comportait dix hydatidoses, 20 distomatoses, 70 sujets présentant des affections parasitaires ou non (Tableau I). Toutes les tentatives visant à éliminer ces marquages, tout en respectant la spécificité, se sont avérées inefficaces.

Le choix de la dilution initiale à 1/100ème, constitue un compromis entre sensibilité et spécificité. C'est pourquoi son interprétation est parfois délicate. Cependant, ces marquages semblent rarement dépasser le 1/100ème.

TABLEAU I

TAUX	0	± 100	100	200
HYDATIDOSES 10 CAS	2	2	4	2
DISTOMATOSES 20 CAS	10	4	2	4
DIVERS 70 CAS	15	43	11	1

RESULTATS DE 100 PATIENTS N'AYANT JAMAIS SEJOURNE EN ZONE ENDEMIQUE

Sensibilité

A l'inverse, la sensibilité de la méthode s'avère excellente, comme en témoigne l'existence de positivité égale et même supérieure à 12.800.

Reproductibilité

La reproductibilité de la méthode s'inscrit dans le cadre d'une dilution de raison 2 ; il n'est donc possible d'affirmer l'existence d'une variation réelle du taux des anticorps, que s'il existe un écart de deux dilutions entre les deux prélèvements.

Il est certain que la reproductibilité est ici inférieure à celle obtenue en immunofluorescence tréponème ou toxoplasmose.

° ° °

RESULTATS OBTENUS
DANS L'ETUDE DE 361 SUJETS ATTEINTS
DE BILHARZIOSE CHRONIQUE EVOLUTIVE
CONFIRMEE

-:-

MATERIEL D'ETUDE

-:-

141 de nos sujets, d'origine antillaise pour la plupart, étaient porteurs de bilharziose intestinale ou hépatosplénique dues à Schistozoma mansoni.

220 sujets, originaires de l'Afrique de l'Ouest, présentaient une bilharziose urinaire due à Schistosoma haematobium ; dans 8 cas, on notait une atteinte mixte.

Tous ces patients éliminant des oeufs embryonnés vivants, témoins de l'évolutivité de leur affection, étaient suivis dans le service des maladies parasitaires et tropicales de l'Hôpital de la Pitié à Paris.(1)

Notre confrontation immunoclinique est ici faite avant tout traitement spécifique, qui modifie de façon certaine le taux des anticorps dans bon nombre de cas.

Le calcul du taux moyen que nous utilisons permet une première appréciation des résultats obtenus.

Pour des raisons de commodité, nous écrirons par la suite l'inverse des **taux**, (exemple 100 au lieu de 1/100ème).

---

(1)Laboratoire Central de Parasitologie et Consultation des maladies tropicales et parasitaires - Service du Professeur M. Gentilini. Groupe Hospitalier Pitié-Salpétrière - Paris.

RESULTATS OBTENUS SELON LE TYPE DE SCHISTOSOME

-:-

On note une différence quantitative des résultats, selon le type de Schistosome envisagé (Tableau II):

Le taux moyen ici trouvé, est plus élevé pour l'ensemble des bilharzioses intestinales (1087), plus faible pour les bilharzioses urinaires (442).

Cette différence déjà rencontrée par d'autres auteurs, (39) peut être attribuée à l'utilisation d'un antigène hétérologue (Schistosoma mansoni) dans le diagnostic en immunofluorescence, des bilharzioses à Schistosoma haematobium.

Le diagramme immunoélectrophorétique des deux antigènes étant extrêmement proche (45), rend valide en pratique, l'utilisation d'un antigène unique pour le diagnostic immunologique des deux affections.

On ne peut éliminer, d'autre part, l'intervention possible de réactions immunitaires plus générales, reflets indirects de l'adaptation du parasite à son hôte. Ainsi Schistosoma haematobium, parasite bien adapté à l'homme son unique réservoir, provoquerait une réponse immunitaire plus faible que Schistosoma mansoni.

TABLEAU II

TYPE / TAUX	S.haema-tobium.	S. mansoni	S.haematobium + S. mansoni
25.600	-	-	-
12.800	-	1	-
6.400	2	6	-
3.200	2	11	-
1.600	3	14	-
800	34	31	-
400	58	33	3
200	70	23	3
100	23	16	2
0	20	4	-
NOMBRE DE CAS	212	141	8
TAUX MOYEN	442	1.087	250

RESULTATS EN FONCTION DE L'ESPECE PARASITAIRE

La différence quantitative des moyennes, ne rend pas compte de la dispersion réelle des résultats individuels, et ne permet pas de conclure pour chacun d'entre eux.

Pour les taux égaux ou supérieurs à 1600, nous rencontrons 22,7% de bilharzioses intestinales, et 3,4% de bilharzioses urinaires.

Pour les taux se situant entre 400 et 800, les pourcentages s'équilibrent, soit : 45,3% de bilharzioses intestinales, et 43,4% de bilharzioses urinaires.

Pour les taux égaux ou inférieurs à 200, nous rencontrons 32% de bilharzioses à Schistosoma mansoni, et 53,2% de bilharzioses à Schistosoma haematobium.

Cette différence quantitative n'apparaît donc réelle qu'au niveau des taux élevés, égaux ou supérieurs à 1600 (tableau 3).

Sans pouvoir apporter d'explication satisfaisante, nous décelons un taux moyen de 250 chez les huit porteurs des deux affections.

Cette réaction d'immunofluorescence, pratiquée sur 361 sérums, est positive dans 94,6% des cas. Des sérums négatifs sont, en effet, relevés dans :

- 9,4% des bilharzioses urinaires
- 2,8% des bilharzioses intestinales
- 0% des bilharzioses mixtes

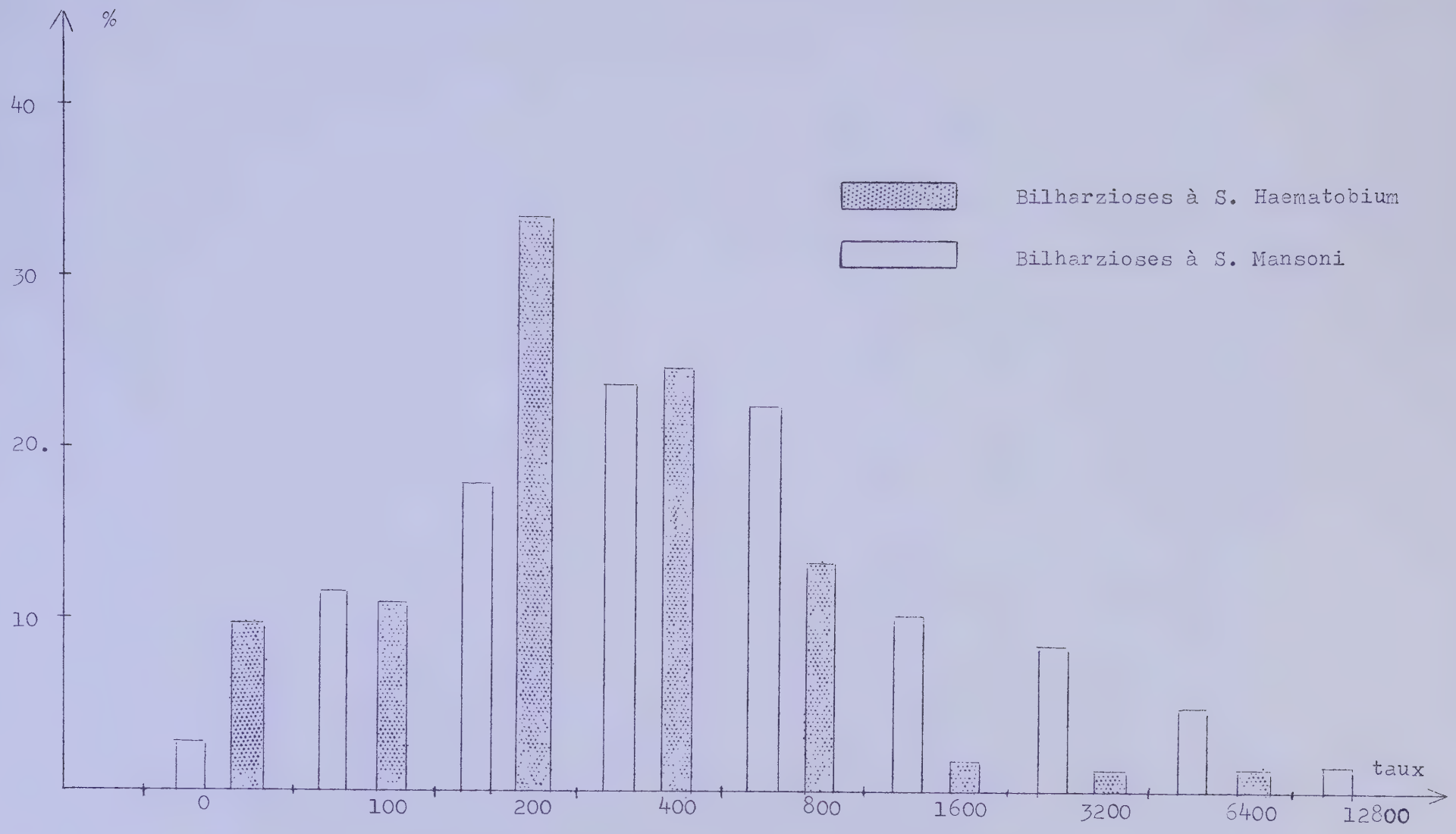


TABLEAU III - Résultats en fonction de l'espèce parasitaire -
Pourcentage pour chaque taux (361 sérums)

Cette négativité des sérums pour des affections évolutives, n'étant pas en rapport avec une diminution de la stimulation antigénique, il faut admettre que la réactivité de l'organisme est modifiée chez certains sujets, sans pouvoir en déterminer les raisons.

Nous avons pu remarquer, d'autre part, que ces malades étaient susceptibles, le cas échéant, de présenter des positivités élevées (jusqu'à 1600 dans un cas) après un traitement spécifique.

° ° °

RESULTATS OBTENUS EN FONCTION DES DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

-:-

Dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques concertées, l'envoi de sérums prélevés sur le terrain, doit permettre grâce à la spécificité de cette réaction, d'apprécier l'endémie bilharzienne, suivant l'âge, le sexe et l'origine des patients.

Seule a pu être envisagée ici, l'influence du lieu de contamination dans les bilharzioses intestinales (tableau 4).

Les taux moyens observés pour 100 malades, sont très proches en Guadeloupe et Martinique (1136 $\pm$ 154) ; pour 13 sujets africains, ce même taux est de 600.

L'analyse détaillée des résultats, révèle qu'un seul de ces 13 patients atteint 3200, les 12 autres ayant des taux inférieurs ou égaux à 800.

Nous devons, cependant, tenir compte ici de la disproportion de nos deux échantillons, qui ne permet pas de conclure.

TABLEAU IV

TAUX	MARTINIQUE	GUADELOUPE	AFRIQUE
25.600	-	-	-
12.800	1	-	-
6.400	2	1	-
3.200	8	2	1
1.600	3	8	-
800	6	11	3
400	14	10	3
200	7	8	4
100	7	5	2
0	4	0	0
NOMBRE DE CAS	54	46	13
TAUX MOYEN	1.290	982	600

RESULTATS EN FONCTION
DU LIEU DE CONTAMINATION
(Bilharzioses à Schistosoma Mansoni)

EVOLUTION DES ANTICORPS EN FONCTION DE L'ANCIENNETE PRESUMEE DE L'AFFECTION

-:-

Un certain nombre de sujets étaient vus précocément dès leur arrivée en France. D'autres, au contraire, consultaient tardivement, porteurs de bilharzioses méconnues ou asymptomatiques.

Nous décelons ainsi une très faible diminution des taux d'anticorps au fil des mois, de façon parallèle dans les deux affections, (tableaux 5 et 6)

Cette diminution ne peut s'expliquer par la mort des parasites adultes, tous nos patients éliminant des oeufs vivants. Elle traduit peut-être une stabilisation dans la synthèse des anticorps, par tolérance de l'hôte vis-à-vis de son parasite.

Outre le caractère discret de cette décroissance, nous devons noter l'existence de positivités élevées dans certains cas où nous avons la certitude d'un non retour en

zône endémique. Ainsi, 4 malades contaminés sept ans auparavant, et plus, présentent des taux égaux à 1600.

Cependant, pour l'ensemble de nos sujets, la réascension tardive des anticorps observée, (tableau 5) doit être mise le plus souvent sur le compte de retours en zône endémique non signalés lors de la consultation.

° ° °

TABLEAU V

DELAIS ECOULE	- 3 mois	3 à 12 mois	12 à 24 mois	24 à 48 mois	+ de 48 mois
NOMBRE DE CAS	27	27	23	14	31
TAUX MOYEN	1.059	825	739	971	1.058

a) Bilharzioses à Schistosoma Mansoni

DELAIS ECOULE	- 3 mois	3 à 12 mois	12 à 24 mois	24 à 48 mois	+ de 48 mois
NOMBRE DE CAS	65	39	42	30	14
TAUX MOYEN	558	466	378	283	355

b) Bilharzioses à Schistosoma haematobium

RESULTATS EN FONCTION DE L'ANCIENNETE

PRESUMEE DE L'AFFECTION

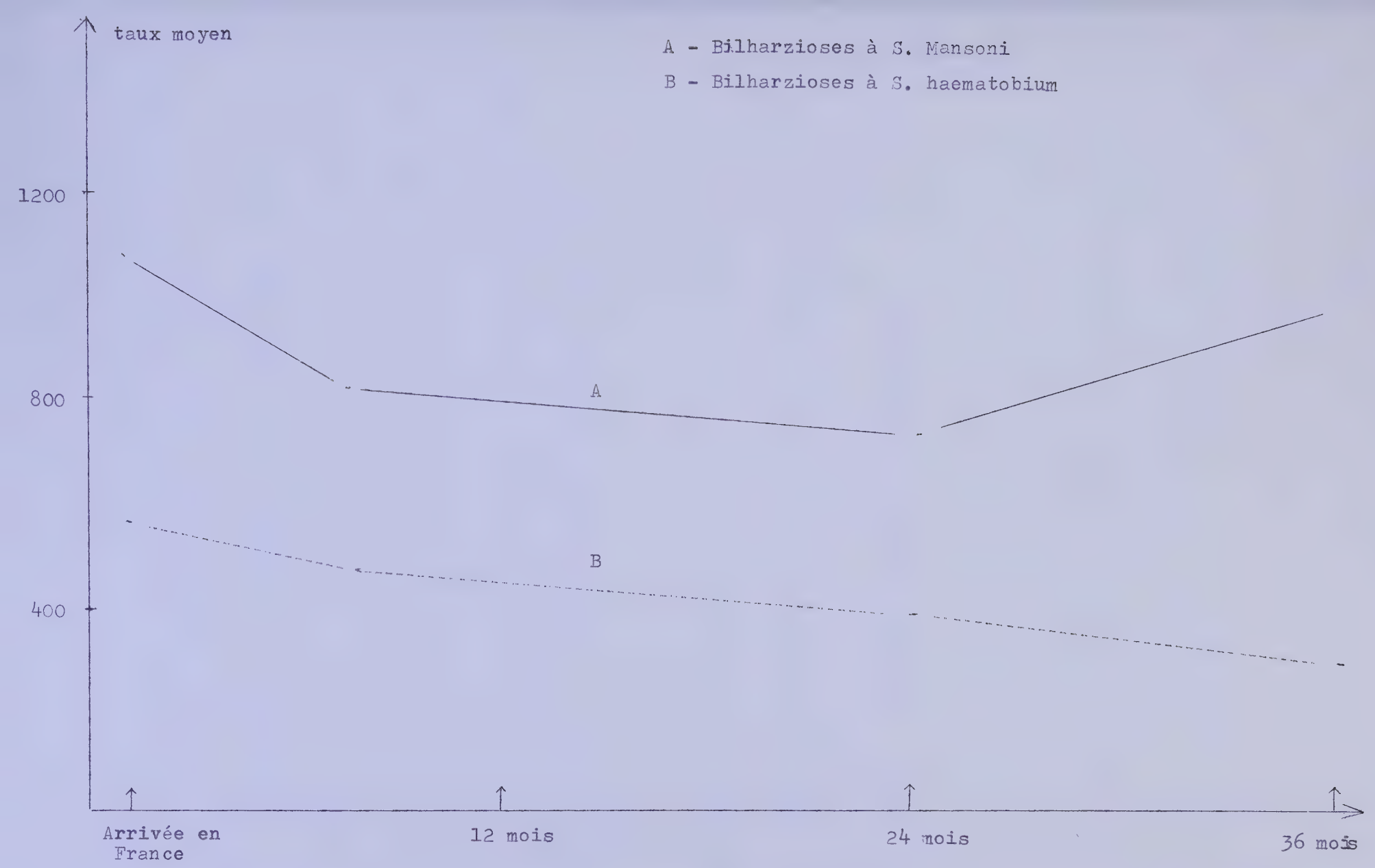


TABLEAU VI - Evolution des Anticorps Fluorescents en fonction de l'ancienneté présumée de l'affection.

RESULTATS OBTENUS EN FONCTION DES SIGNES CLINIQUES ET DES EXAMENS PARACLINIQUES

-:-

BILHARZIOSES A SCHISTOSOMA MANSONI

a) Résultats en fonction des données cliniques.

5 sujets originaires des Antilles, présentaient des lésions hépatospléniques présumées bilharziennes ; des troubles de la crase sanguine interdisant en effet, la confirmation formelle par laparoscopie ou ponction biopsie hépatique dans trois cas. Tous ces sujets, éliminaient des oeufs embryonnés vivants de Schistosoma mansoni dans les selles.

Le taux moyen obtenu est de 2 759, soit 2,5 fois plus élevé que le résultat moyen de toutes les bilharzioses intestinales réunies: 1087.

Cette différence quantitative atteint en valeur absolue l'équivalent de deux dilutions, et peut être tenue

pour significative, vu la reproductibilité de l'immunofluorescence dans la bilharziose.

b) Résultats en fonction de la rectoscopie.

(tableau 7)

L'existence ou l'absence de lésions spécifiquement bilharziennes à la rectoscopie, ne se traduit pas ici par un taux plus élevé d'anticorps.

Les taux moyens obtenus sont de 647 sans lésion spécifique (19 cas) et de 628 avec lésions spécifiques (7 cas).

Pour ces 26 sujets, une biopsie rectale associée, a permi de retrouver des oeufs vivants (seul critère d'évolutivité) dans 8 cas ; ailleurs, la positivité de l'immunofluorescence incitait à multiplier les recherches parasitologiques dans les selles, confirmant à plus ou moins brève échéance l'évolutivité de la bilharziose.

-:-

TABLEAU VII

TAUX	Rectoscopie Normale	Lésions non spécifiques	Lésions spécifiques
12.800	-	-	-
6.400	-	1	-
3.200	-	-	-
1.600	-	-	1
800	2	-	3
400	4	3	-
200	5	1	1
100	1	2	2
0	-	-	-
NOMBRE DE CAS	12	7	7
TAUX MOYEN	647		628

RESULTATS EN FONCTION DE LA RECTOSCOPIE

(Bilharzioses à Schistosoma Mansoni)

BILHARZIOSES A SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM

-:-

Sur 212 dossiers examinés, nous relevons 165 urographies intraveineuses, et 134 cystoscopies.

a) Résultats en fonction de l'urographie intraveineuse (Tableau 8).

Des lésions radiologiques, dues à la bilharziose, sont présentes dans 86 cas :

Le taux moyen obtenu est de 517.

Dans 79 cas, cet examen était tenu pour normal :

Le taux moyen obtenu est de 211.

Cette différence quantitative, tout en étant modérée, reflète le caractère répété (et l'ancienneté) des infestations par Schistosoma haématobium, critère de gravité mais non d'évolutivité.

TABLEAU XII

TAUX	UIV sans lésions	UIV avec lésions
12.800	-	-
6.400	-	2
3.200	-	1
1.600	-	3
800	10	20
400	21	22
200	33	21
100	9	11
0	6	6
NOMBRE DE CAS	79	86
TAUX MOYEN	211	517

RESULTATS EN FONCTION DE L'UROGRAPHIE INTRAVEINEUSE

(165 CAS)

b) Résultats en fonction de la cystoscopie

(Tableau 9).

Nous avons établi la répartition des taux en tenant compte des lésions évolutives observées en cystoscopie, par le même opérateur :

. Stade primaire : semis de sucre en poudre,
. Stade secondaire : lésions en grains d'acné,
. Stade tertiaire : présence de tumeurs framboisées.

Pour ces 134 sujets africains, on note :

- 125 cystoscopie avec lésions évolutives,
- 8 vessies cicatricielles,
- 1 vessie indemne.

Le taux moyen obtenu est ici de :

. 448 pour le premier groupe,
. 233 pour les deux derniers.

Nous devons souligner les fréquentes discordances observées entre le taux obtenu et l'évolutivité des lésions cystoscopiques ; nous rencontrons, en effet, des fluorescences négatives ou faiblement positives pour des vessies très touchées par la bilharziose.

TABLEAU IX

TAUX	Vessie normale	Vessie cicatricielle.	lésions primaires.	lésions secondaires.	lésions tertiaires.
12.800	-	-	-	-	-
6.400	-	-	-	-	1
3.200	-	-	-	-	1
1.600	-	-	-	2	-
800	-	1	6	9	5
400	-	-	4	22	12
200	1	5	7	18	16
100	-	1	3	4	3
0	-	1	3	6	3
NOMBRE DE CAS	1	8	23	61	41
TAUX MOYEN	233		448		

RESULTATS EN FONCTION DE LA CYSTOSCOPIE

(234 CAS)

TABLEAU X

TAUX	Lésions présentes aux deux examens.	Lésions à la seule cytoscopie.	Aucune lésion décelable aux deux examens.
12.800	-	-	-
6.400	1	-	-
3.200	1	-	-
1.600	3	-	-
800	11	8	-
400	15	16	1
200	14	20	2
100	3	5	2
0	5	3	-
NOMBRE DE CAS	53	52	5
TAUX MOYEN	609	332	200

RESULTATS DE LA CYSTOSCOPIE COUPLEE A L'UROGRAPHIE INTRAVENEUSE

(chez 110 sujets)

EVOLUTION DES ANTICORPS SOUS L'EFFET D'UN TRAITEMENT SPECIFIQUE

-:-

Tous les sujets étudiés ayant fait l'objet d'une confirmation parasitologique de leur bilharziose, furent traités. L'évolution des anticorps circulants, sous l'effet d'un traitement spécifique, est rapporté dans les tableaux 11 et 12.

Les résultats obtenus, confirment les études antérieurement faites par immunoélectrophorèse (23) ou par immunofluorescence indirecte (33 et 39).

Quel que soit le type de Schistosome incriminé, le médicament utilisé (Niridazole ou Ambilhar, Métrifonate ou Bilarcil), on note une élévation maximale des anticorps entre le premier et le troisième mois suivant le traitement. Au-delà, les résultats obtenus décroissent régulièrement pour atteindre, passé le sixième mois, un seuil inférieur au taux moyen initial.

Cette élévation massive des anticorps est attribuée à la lyse des vers adultes par le traitement schistosomicide ; l'importan e quantité d'antigène qui est ainsi libérée entraînant après un certain délai, une forte réponse immunologique.

Un an après la cure, cependant, on décèle des anticorps résiduels chez la majorité des patients de nos trois lots. Il est ainsi impossible d'apprécier l'efficacité de cette thérapeutique en l'absence d'un taux initial connu.

Seules l'amélioration fonctionnelle des patients, la négativité des examens parasitologiques, confrontés aux données de l'immunofluorescence, apporteront au clinicien la certitude d'une guérison.

°°°

TABLEAU XI

DELAIS APRES AMBILHAR.	- de 7 jours	7 à 15 jours	15 à 30 jours	1 à 3 mois	3 à 6 mois	6 à 12 mois	+ de 12 mois
SERUMS ETUDIES	110	59	15	17	7	4	4
TAUX MOYEN	1134	1810	2840	4211	3100	590	375

a) Bilharzioses à Schistosoma Mansoni

DELAIS APRES AMBILHAR.	- de 7 jours	7 à 15 jours	15 à 30 jours	1 à 3 mois	3 à 6 mois	6 à 12 mois	+ de 12 mois
SERUMS ETUDIES	141	89	36	20	9	10	21
TAUX MOYEN	446	383	1161	1400	533	430	228

b) Bilharzioses à Schistosoma Haematobium

DELAIS APRES BILARCIL	- de 7 jours	7 à 15 jours	15 à 30 jours	1 à 3 mois	3 à 6 mois	6 à 12 mois	+ de 12 mois
SERUMS ETUDIES	49	40	42	40	36	24	1
TAUX MOYEN	410	400	652	675	386	354	200

c) Bilharzioses à Schistosoma Haematobium

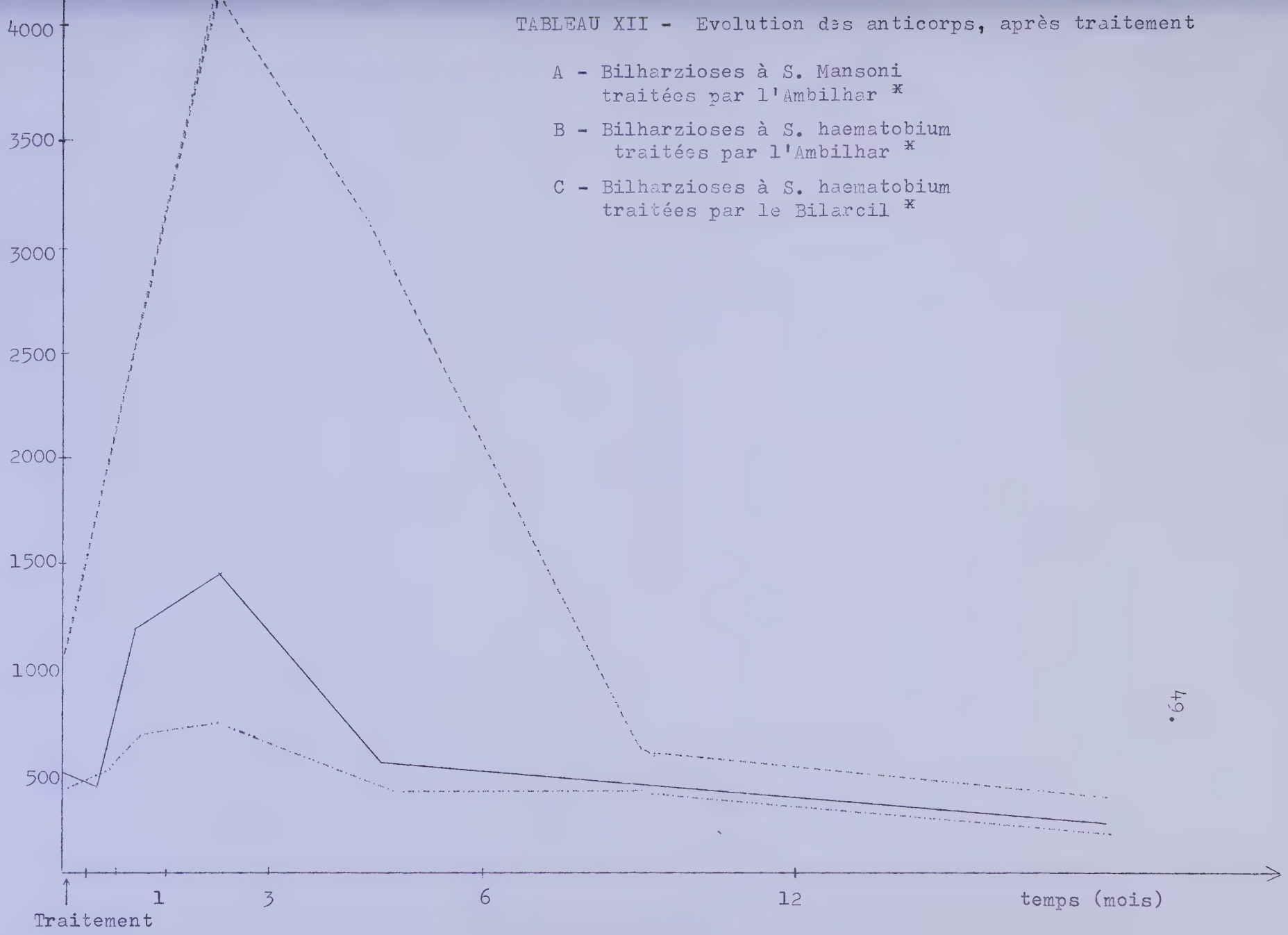
EVOLUTION DES ANTICORPS APRES TRAITEMENTS ANTIBILHARZIENS

TABLEAU XII - Evolution des anticorps, après traitement

A - Bilharzioses à S. Mansoni traitées par l'Ambilhar *

B - Bilharzioses à S. haematobium traitées par l'Ambilhar *

C - Bilharzioses à S. haematobium traitées par le Bilarcil *



C O N C L U S I O N S

-:-

Sans cesse améliorée depuis dix ans, l'Immunofluorescence indirecte appliquée aux bilharzioses est un examen de choix dans l'éventail des réactions sérologiques proposées pour le diagnostic de ces parasitoses.

Chez 361 sujets atteints de bilharziose chronique évolutive confirmée, nous avons noté une positivité de cet examen dans 94,6% des cas.

Pour ces patients, suivis dans un service hospitalier parisien, l'absence de réinfestation s'accompagne spontanément d'une décroissance régulière des taux d'anticrops circulants.

On note une différence quantitative des taux obtenus suivant le type de bilharziose : les taux élevés étant plus fréquemment observés dans le parasitisme à Schistosoma mansoni, les taux faibles dans le parasitisme à Schistosoma haematobium.

La confrontation immuno-clinique de ces dossiers révèle des taux très élevés d'anticorps lorsque existent des lésions hépato-spléniques dues à Schistosoma mansoni ; pour

ce même parasite, la présence ou l'absence de lésions spécifiquement bilharziennes à la rectoscopie, ne modifie pas les taux moyens.

Dans les bilharzioses urogénitales, on note une élévation des taux observés en présence de lésions urographiques d'une part, de lésions cystoscopiques spécifiques d'autre part.

Si dans l'ensemble, la moyenne des résultats sérologiques obtenus en immunofluorescence indirecte, reflète la gravité et l'évolutivité des lésions bilharziennes, nous devons cependant souligner les fréquentes discordances observées au niveau du résultat individuel.

Dans les deux types de parasitoses, l'action d'un produit schistosomicide entraîne fréquemment une ascension significative des anticorps circulants, maximale entre le premier et troisième mois après le traitement ; puis survient une décroissance lente et régulière, qui atteint, au-delà du sixième mois, un seuil inférieur au taux initial.

Confrontée à l'origine géographique du malade, l'immunofluorescence indirecte s'avère utile dans l'enquête étiologique d'une éosinophilie inexpliquée. Pour un seuil de spécificité donné par le laboratoire, l'existence d'un taux positif doit inciter le clinicien à multiplier les recherches parasitologiques directes ou endoscopiques, qui seules

confirmeront l'évolutivité de la bilharziose et son type.

L'importance du taux obtenu ne saurait être à lui seul, un argument suffisant pour entreprendre une thérapeutique ; le diagnostic confirmé, l'évolution de la sérologie ajoutera un élément supplémentaire aux critères de guérison.

La maniabilité de l'immunofluorescence indirecte, son faible prix de revient, sa spécificité enfin, lui confèrent des avantages indiscutables lors d'enquêtes épidémiologiques. Cet examen permet à l'échelon d'un état d'apprécier l'endémie bilharzienne, et peu ainsi orienter une politique sanitaire pour lutter contre le félau économique et social de ces parasitoses.

° ° °

Vu, le Président de Thèse
Professeur M. GENTILINI

Vu le Doyen de la Faculté,
Professeur P. CASTAIGNE

Vu et Permis d'Imprimer

Le Recteur de l'Académie

R. MALLET

B I B L I O G R A P H I E

-:-

1.- AMBROISE-THOMAS P.
Les acquisitions et les perspectives de l'immunofluorescence en parasitologie.
J. Méd. Lyon, 5 juin 1965, 46,
n° 1078, 1055-1068,(Bibliogr.)

2.- AMBROISE-THOMAS P.
Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence,
Thèse Sciences, Lyon, 1969.

3.- AMBROISE-THOMAS P.
Place actuelle de la sérologie parasitaire dans le diagnostic et le contrôle post-thérapeutique des parasitoses.
Cahiers méd. Lyonnais, 20 fév. 1970. 46, n°7
563-571, 5 fig.

4.- AMBROISE-THOMAS P.
Les rapports entre les parasites et leurs hôtes, la maladie parasitaire.
Cahiers médicaux Lyonnais, 46, n°9, 1970.
p. 735-740.

5.- ANDERSON R., SADUN E. et WILLIAMS J.
Preserved cencariae in the fluorescent antibody test for schistosomiasis.
Exp. Parasit., 1961, 11. 226-230.

6.- ANDERSON R., SADUN E., et WILLIAMS J.
A technique for use of minute amounts of dried blood in the fluorescent antibody test for schistosomiasis.
Exp. Parasit. 1961, 11. 11-116.

7.- BASSILY S., HIGASHI G.I., FARID Z., et qWILLIAMS R.E.
Immunoglobulines sériques dans la schistosomiase à Mansoni.
J. trop. Med. Hyg., av. 1972, 75, n°4, 73-75, (Bibliogr.).

8.- BIGUET J., CAPRON A., et TRAN VAN KY.
Les antigènes de Schistosoma mansoni.
Ann. Inst. Pasteur, 1962, 103, 763-777.

9.- BIGUET J., ROSE F., CAPRON A., et THAN VAN KY P.
Contribution de l'analyse immuno-électrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux.
Rev. Immunol. Paris, 1965, 29,5.

10.- BRUMPT L.
Les Schistosomiases.
Rev.Prat. (Paris) 1970.
Tome 20. p. 5-22.

11.- BRUIJNING C.
The fluorescent antibody test for Schistosomiasis in experimentally infected mice.
Trop. geogr. Med., 1965,17, 325-328.

12.- CAMARGO M., HOSHIRO S., DA SILVA L.C.
A slide fluorescent antibody technique with adult worm antigen for the serological diagnosis of schistosomiasis mansoni.
Rev. Inst. Med. trop. (Sao-Paulo), 1965, 7, 327-331.

13.- CAPRON A., BIGUET J., ROSE F., et VERNES A.
Les antigènes de S. mansoni. II. Etude immuno-électrophorétique comparée de divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Aspects immunologiques des re-

tions hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de S. mansoni.
Ann. Inst. Pasteur, 1965, 109, 798-820.

14.- CAPRON A. VERNES A., BIGUET J., ROSE F., CLAY A., et ADENIS C.
Les précipitines sériques dans les bilharzioses humaines et expérimentales à S. mansoni., S. haematobium et S. japonicum.
Ann. Parasit. Hum. Comp., 1966., 41, 123.

15.- CAPRON A., VERNES.A., BIGUET J., et ROSE F.
Les précipitines sériques dans les bilharzioses humaines et expérimentales à Schistosoma mansoni, S. haematobium et S. japonicum.
Ann. Parasit. hum. comp., 1966, 41, 123-187.

16.- COOKSON L.
Some modifications of the fluorescent antibody test in human bilharziasis.
Bull. Org. mond. Santé.
1964. 31, 799-813.

17.- COUDERT J;, GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P., et POTHIER M.A.
Premiers résultats à propos du diagnostic sérologique de la bilharziose par immuno-fluorescence sur coupes à la congélation de Schistosoma mansoni.
Ann. Parasitol. Hum.Comp.,1967, 42, n° 5,483-492.

18.- COUDERT J., KIEN TRUONG J. et AMBROISE-THOMAS P.
Etude antigénique des différents stades évolutifs de S. mansoni par immunofluorescence indirecte sur coupes.
Bull. Soc. Path. Exot., 1968; 61, 424

19.- COUDERT J., GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P., POTHIER M.A., et KIEN TRUONG THAI.
Immuno-fluorescence sur coupes à la congélation de Schistosoma mansoni.
Acta Trop., 1968, 25, 100-132.

20.- DODIN A., RATOVONDRAHETY,MOREAU J.P., et RICHARD J.
Etude immunologique de bilharziens traités par le Ciba 32'644 Ba.
Ann, Inst, Pasteur, 1965, suppl au n°5, 128.

21.- GIGASSE P.L., VAN MEIRVENNE N. et JANSSENS P.G.
Quantitative fluorescent antibody technics in human and experimental schistosomiasis.
Ann, Soc, Bel, Méd, Trop, 1967, 47, 143-156.

22.- GENTILINI M., CAPRON A., IMBERT J.C., ESCANDE J.P., VERNES A. et DOMART A.
Essais thérapeutiques d'un dérivé du nitro-thiazole dans la bilharziose chronique.
Etude clinique et sérologique portant sur 100 malades.
Bull. Soc. Méd. 117, 1966, n°4, pp. 323-341.

23.- GENTILINI M. et collaborateurs.
Résultats cliniques et séro-immunologiques des essais thérapeutiques par le Ciba 32'644 Ba, portant sur 330 bilharziens chroniques à Schistosoma haematobium et Schistosoma mansoni.
Bull. Soc. Path. exo. Tome 60, n°1, 1967, pp 241-263.

24.- GENTILINI M., et PINON J.M.
Diagnostic immunologique des parasitoses.
Revue de Médecine n°43, 11 déc. 1972.

25.- GENTILINI M., DUFLO B., G. CARBON
Les Bilharzioses in 'médecine tropicale'.
pp. 115-128, Flammarion éditeur (1972-PARIS).

26.- GOLVAN Y.J. et DROUHET E.
Techniques en parasitologie et en mycologie.
Flammarion, Editeur (1972-PARIS).

27.- HOVENASSOU P.C.
Essai thérapeutique d'un organo phosphoré, le métrifonate (Bilacil) dans la Bilharziose urinaire chronique chez 45 sujets originaires d'Afrique Noire francophone

28.- EL GAMAI Y. et coll.
Aspects immunologiques de la schistosomiase.
J. trop. Med. Hyg., juin 1972,
75, n°6, 119-121 (Bibliogr).

29.- KAGAN I.G., SULZER A.J., et CARVER K.
An evaluation of the fluorescent antibody test for the diagnosis of schistosomiasis.
Amer J. Epidemiol., 1965, 81, 63-70.

30.- KAGAN I.G.,
Diagnostic sérologique de la sohistosomiase.
Bull. New York Amad. Med., mars 1958,
44, n°3, 268-279, 5 fig. (Bibliogr.).

31.- LAVARDE V.
A propos de 204 bilharziens urinaires chroniques traités par le nitrothiamidazole (Ciba 32'644 Ba). Résultats cliniques, parasitologiques, endoscopiques et radiologiques. Thèse, Paris, 1966.

32.- LE VIGUELLOUX J. et coll.
Pratique de la réaction d'immunofluorescence indirecte sur Broyat de Schistosoma mansoni. I.- Technique et valeur.
Méd. trop., juillet-août 1971, 31, n°4,
393-398 (bibliogr.)

33.- LE VIGUELLOUX J. et coll.
Pratique de la réaction d'immunofluorescence indirecte sur Broyat de Schistosoma mansoni.
II.- Résultats - interprétation.
Méd, trop, juillet-août 1971, 31, n°4, 399-403.

34.- MALGALHAES-FILHO A., KRUPP I.M. et MALEK E.A.
Localization on antigen and presence of antibodies in tissues of mice infected with Schistosoma mansoni as indicated by fluorescent antibody technics.
Am, J. Trop. Med. Hyg., 1965,14,84,99.

35.- MASTRANDREA G., RINALDI V., et RAVAZZONI L.
Immunologie dans la bilharziose par schistosoma mansoni.
Rif. med., 23 oct. 1971, 85, n° 43, 1281-1287.

36.- MOSSAN O. et Coll.
Contribution à l'étude expérimentale du diagnostic précoce de la bilharziose à Schistosoma mansoni par l'immuno fluorescence.
Bull. Soc. Pathol. exot. 63 : 691-6, Nov.-Déc.70.

37.- NIEL G., PINON J.P., et GENTILINI M.
Immuno fluorescence appliquée au diagnostic sérologique de la bilharziose (à propos d'une technique simple de préparation des coupes à la congélation).
Bull. Soc. Pathol. exot.63 : 356-62, Mai-Juin 1970.

38.- PAYET M., et SANKALE M.
Epidemiologie et prophylaxie des endémies dominantes en Afrique Noire.
(Les Bilhariozes pp. 47-74 par M. Larivière)
Masson éditeur, (1968- PARIS).

39.- POTHIER M.A.
Le séro-diagnostic de la bilharziose par une nouvelle méthode d'immuno-fluorescence sur coupes à la congélation de Schistosoma mansoni.
(Résultats de 773 examens).
Thèse Médecine Paris, 1967, 160 p., 185 réf.

40.- SADUN E.H., WILLIAMS J.S., et ANDERSON R.I.
The nature of fluorescent antibody reaction in infections and artificial immunization with Schistosoma mansoni. Bull. O.M.S. , 1962, 27, 151-159.

41.- SATO S., IMAMURA S., et YONEYAMA K.
Etudes des infections a par les anticorps fluorescents.
Gunta J. Med. Sc., sopt., 1964, 15, n°13, 199-205 (Bibliogr.).

42.- SUTER-KOPP V., GIACOMETTI P.L. et BERNHARD A.
Application pratique de la technique d'immunofluorescence indirecte pour le diagnostic des maladies parasitaires chez les sujets revenant des pays tropicaux.
Schweiz, med, Wschr., 6 nov. 1971, 101, n°44, 1578-1581. (Bibliogr.)

43.- TRIBOULEY J.
Contribution à l'étude des relations hôte-parasite au cours du parasidisme:par Schistosoma Mansoni.
Thèse Sciences, Bordeaux 1969.

44.- VERNES A., FRUIT J., BOUTHEMY F.,et CAPRON A.
Immunofluorescence indirecte appliquée au diagnostic des bilharzioses. Etude de la spécificité de la réaction sur coupe à la congélation et comparaison avec les techniques d'immuno-électrophorèse et fixa-

tion du complément.
Bull. Soc. Path.Exot., 1969, 62,548.

45.- VERNES A.
Les précipitines sériques dans les Bilharzioses humaines et expérimentales à Schistosoma mansoni, haematobium, japonicum.
Thèse Lille 1965.

° ° °

S E R M E N T

-:-

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !